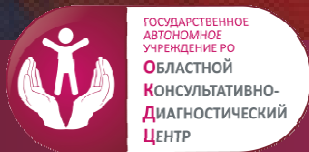


The background of the slide is a microscopic view of blood cells. It features numerous red blood cells, which appear as reddish-orange biconcave discs, and several white blood cells with large, dark purple nuclei and light blue cytoplasm. The cells are distributed across a reddish-brown, textured background that resembles a blood smear.

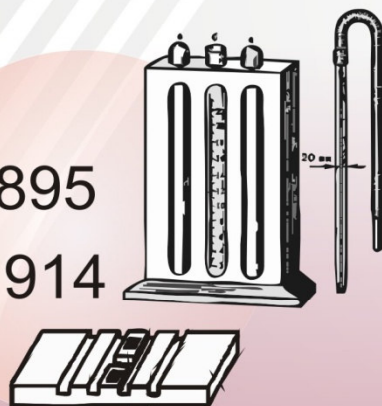
КЛИНИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ГЕМАТОЛОГИИ



Крайнова Наталья Николаевна

*Зав. лабораторией клиничко-гематологических исследований
ГАУ РО Областной консультативно-диагностический центр*

1895
1914



60-е гг.
XX в.



80-90 гг.
XX в.



2016 г.



Начало
XXI в.



If you have the granules - we have the stain

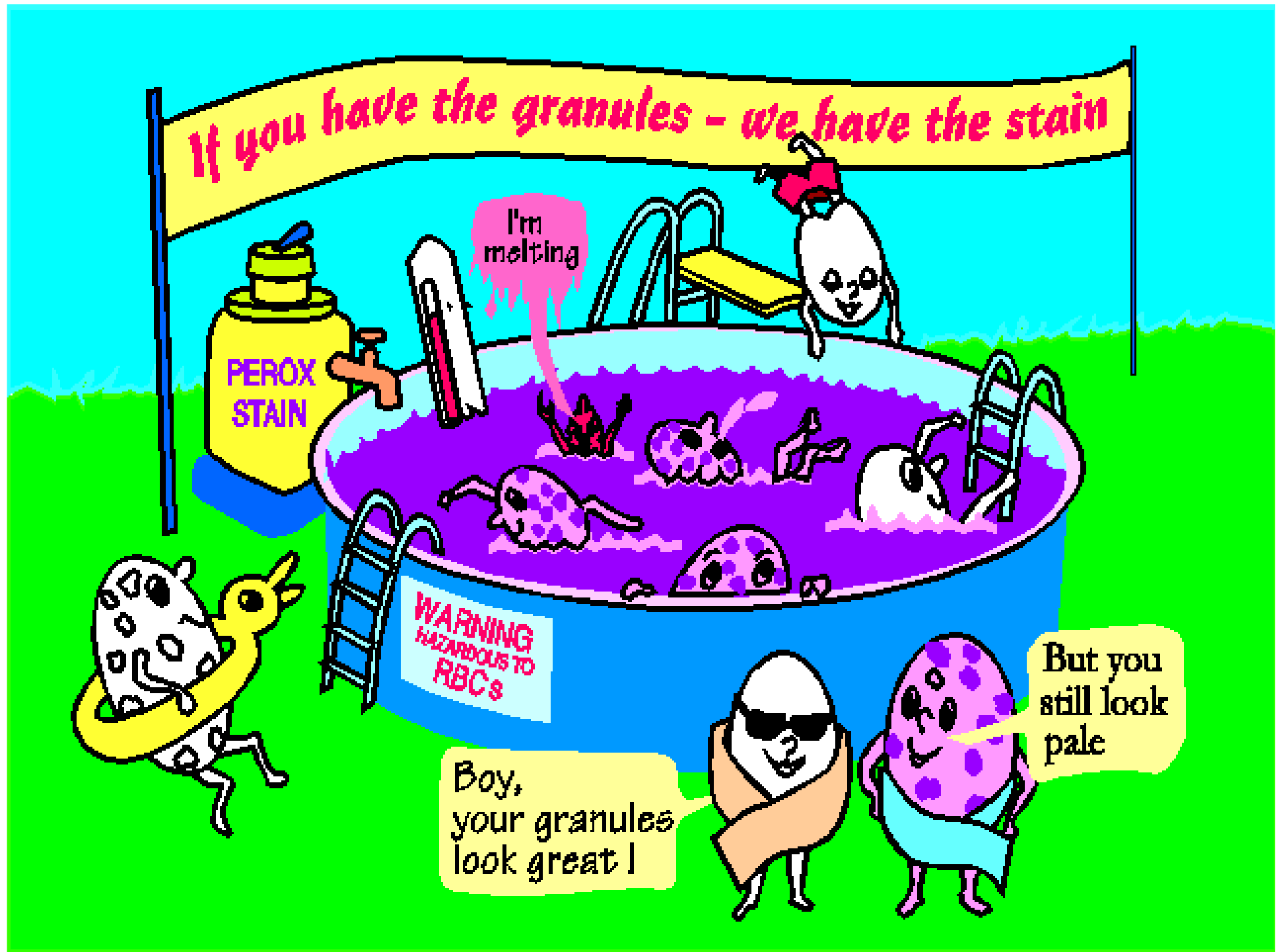
PEROX
STAIN

I'm
melting

WARNING
HAZARDOUS TO
RBCs

Boy,
your granules
look great!

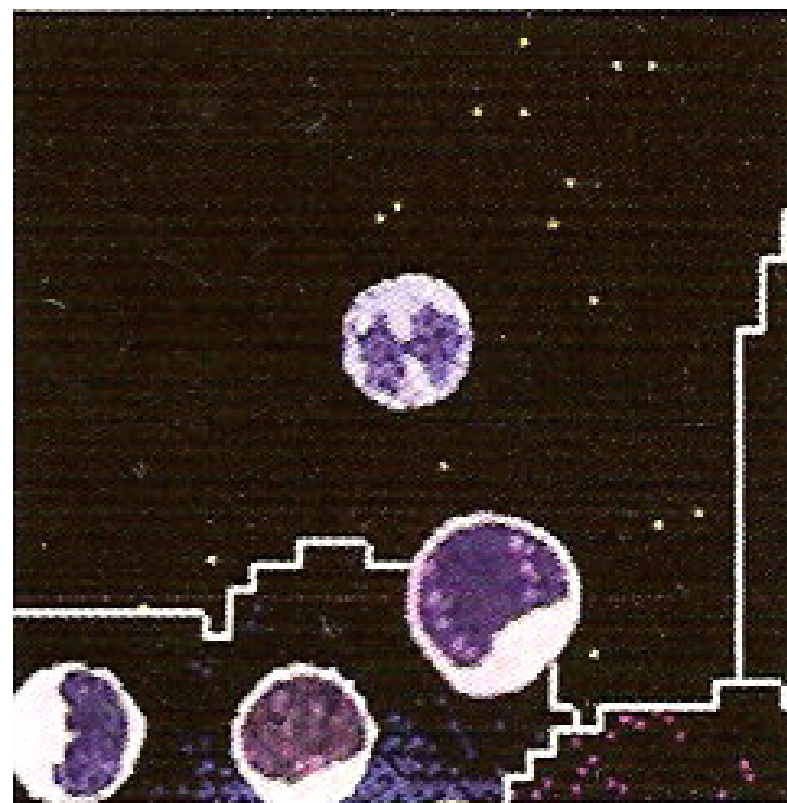
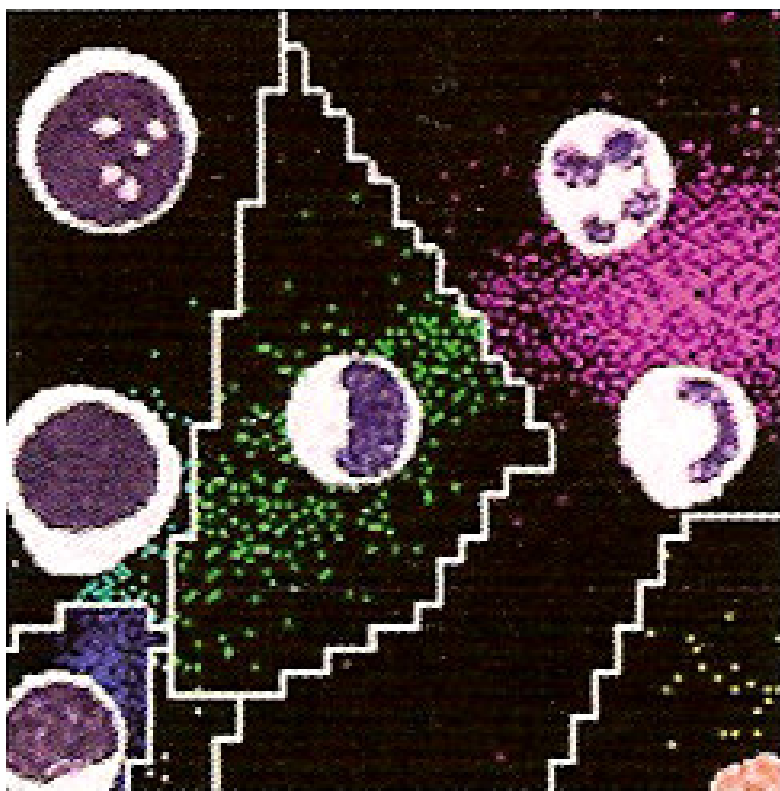
But you
still look
pale

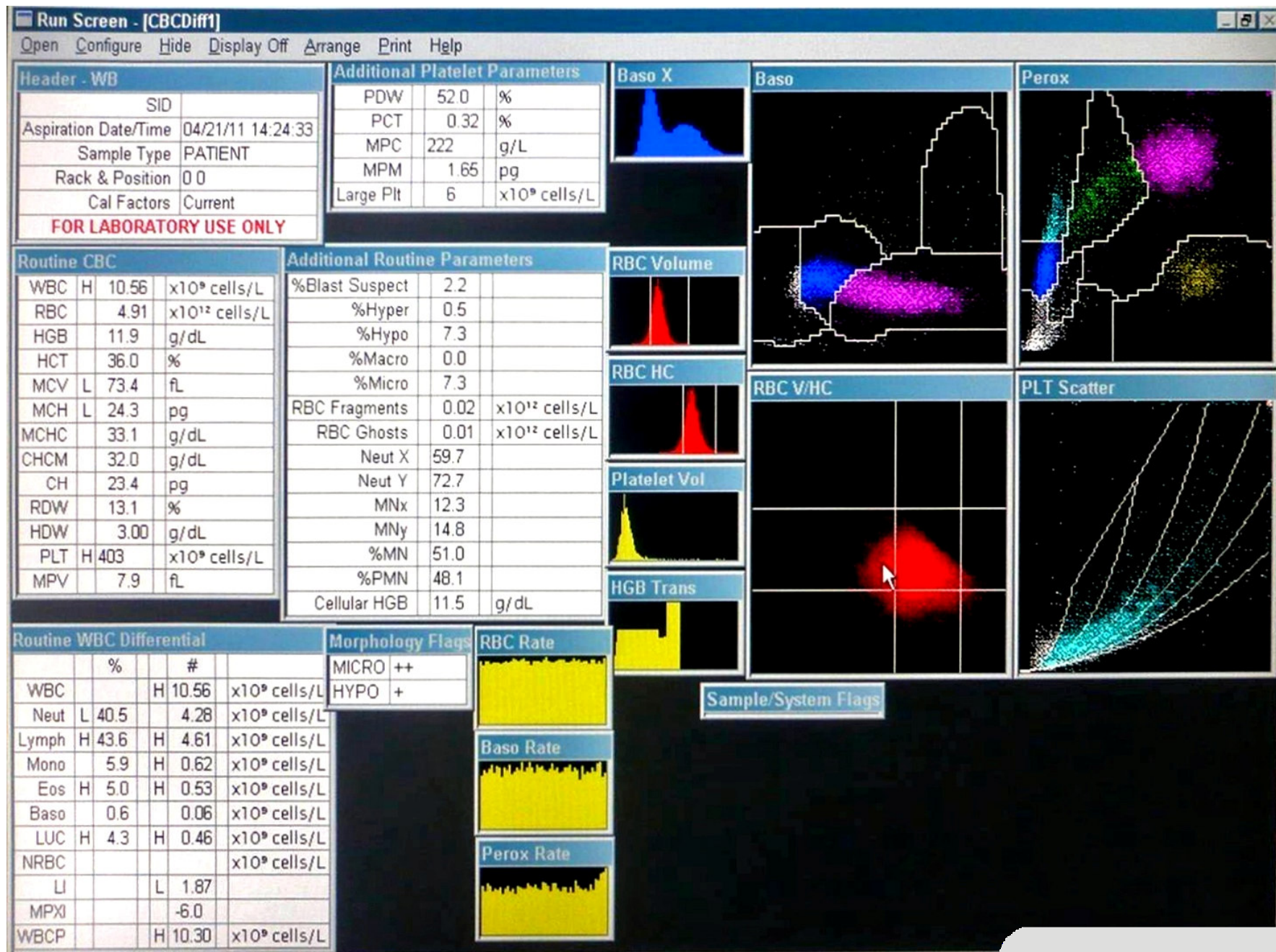




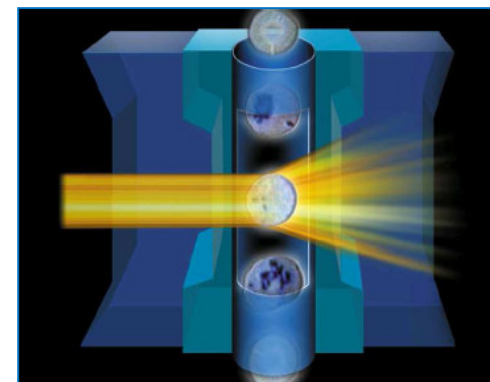
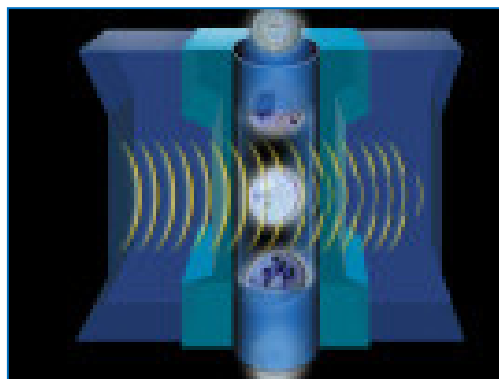
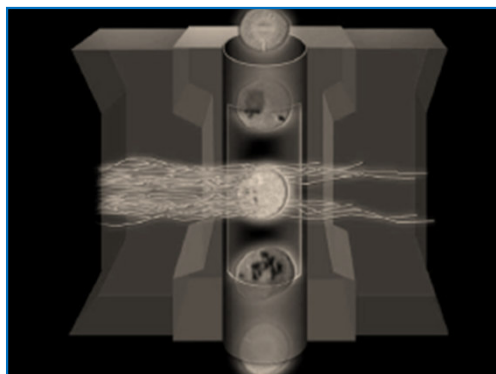
Дифференцировка лейкоцитов на основе пероксидазной цитохимической реакции

Гематологический анализатор ADVIA 2120 фирма Siemens





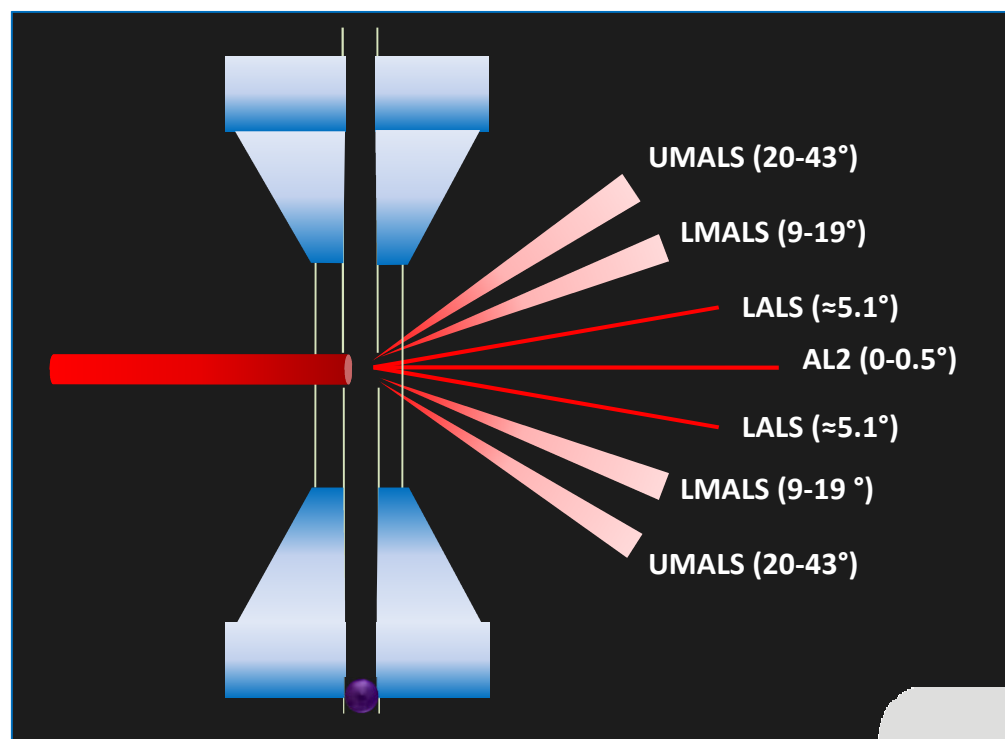
Принцип дифференцировки лейкоцитов в анализаторах фирмы Coulter



Объем (Volume)

Проводимость
(Conductivity)

Лазерное
светорассеивание
(Light Scattering)



Pruebas paciente - [Resultados y gráficas]

Archivo Editar Ver Muestra Aperturas Ventana Ayuda

ID paciente Apellido Nombre secuencia

LEU

% NEU **L** **# NEU**

% LIN **H** **# LIN** **aH**

% MON **# MON**

% EO **H** **# EO** **H**

% BA **# BA**

ERIT **% RET**

HGB **# RET**

HCT **@ VMR**

VCM **@ VMCE**

HCM **@ FRI**

CHCM **@ % RDL**

ADE **@ # RDL**

PLQ

VMP **@ ADP**

Navegación:

Sospechoso / Definitivo

Nº de linfocitosis

Histograma eritrocitario

Histograma de PLQ

Monitor de umbral de LEU

	ID muestra	Pos / Cass	Fecha	Hora	Modo Asp	Estado	Instrumento
CBC(+Dif+Retic)	0530911	000208	21/2/01	8:58:11	Automát	Finalizado	Instrument 1
Sólo Retic							
CD 4							
CD 8							

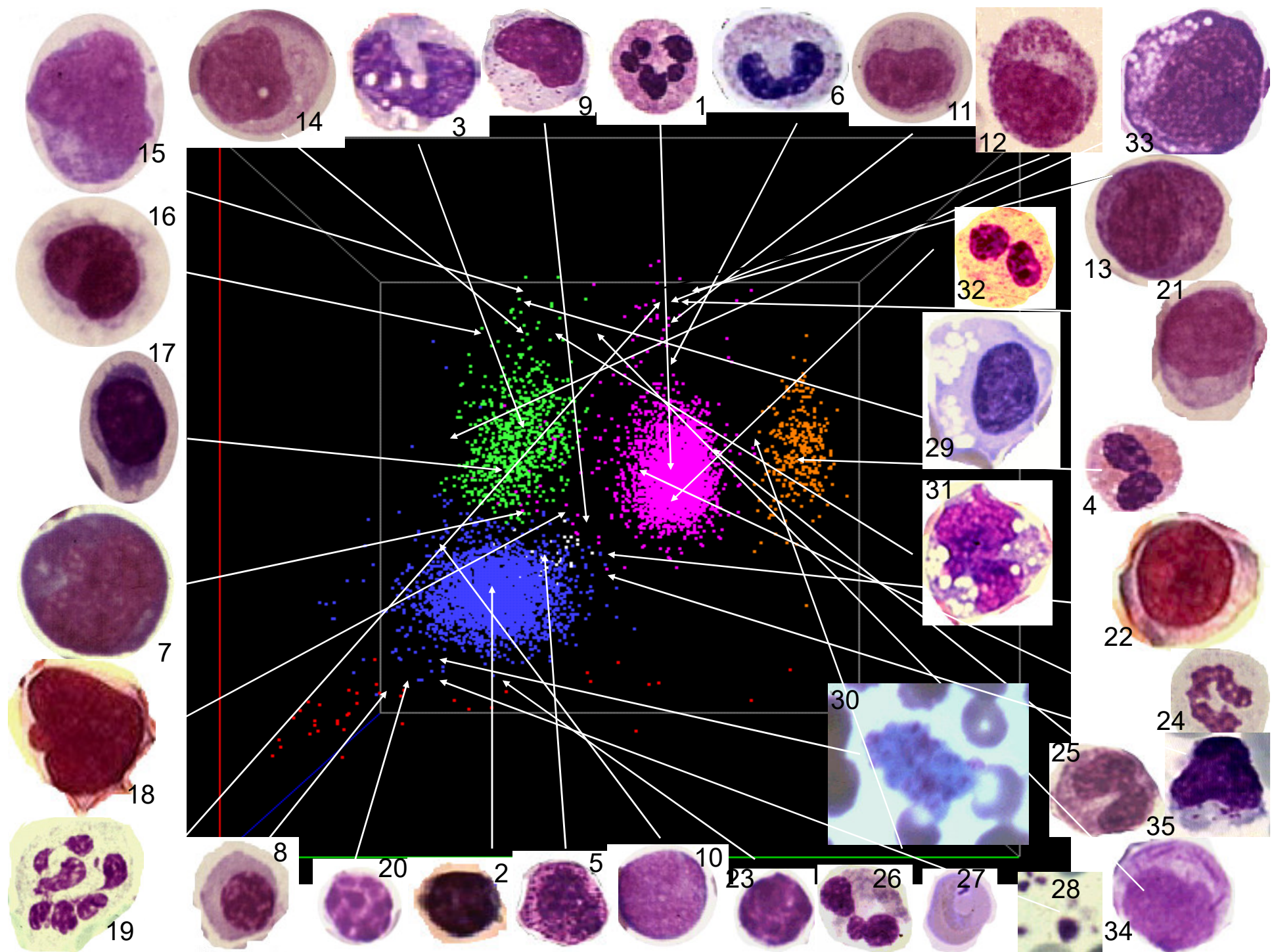
Mostrar/Ocultar datos de investigación

@ Sólo para investigación. No usar en procedimientos de diagnóstico. 27/2/01 15:21

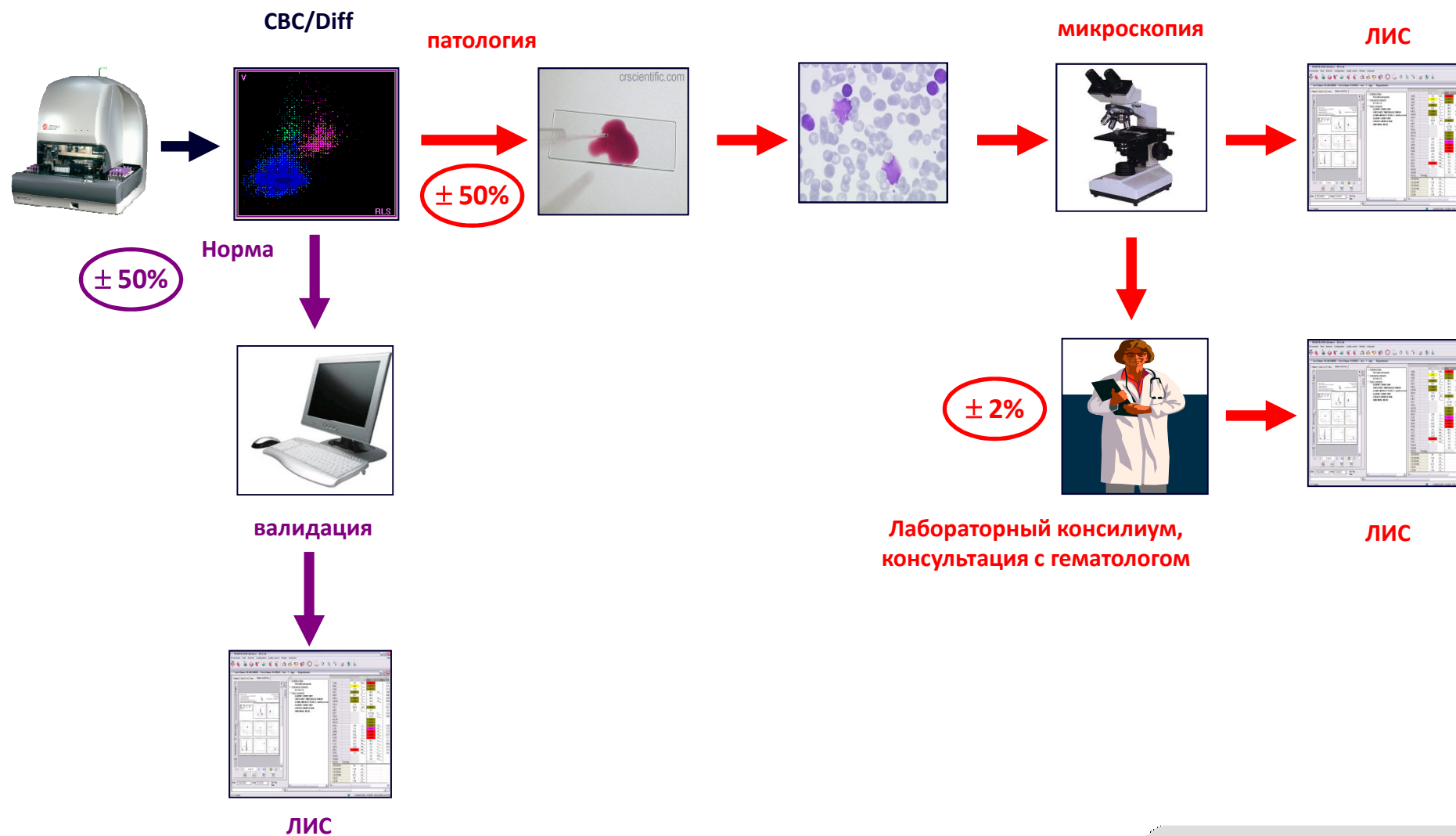
Último mensaje: Se ha resuelto la condición fuera de los límites del último lote XB/XM.

Cód. barras:

ANÁLISIS AUT.



Лабораторный процесс в гематологической лаборатории ОКДЦ



Морфологические флаги diff ADVIA 2120

Морфологический флаг	Уровень выраженности аномалии
BLASTS + (бласты)	1,5 – 5%
BLASTS ++	5 – 10%
BLASTS +++	> 10%
IG + (незрелые гранулоциты)	5 – 7,4%
IG ++	7,5 – 10%
IG +++	> 10%
% LUC + (атипичные лимфоциты)	4.5 – 7.4 %
% LUC ++	7.5 – 10
% LUC +++	> 10%
LS + (левый сдвиг)	$d/D > 1.9$
LS ++	$d/D 1.7 – 1.9$
LS +++	$d/D < 1.7$

Морфологические флаги diff DxH 800

Уведомление об атипии в образце	Описание
Imm Grans (юные гранулоциты)	Образец содержит метамиелоциты и миелоциты и/или промиелоциты
Left Shift (сдвиг влево)	Образец содержит метамиелоциты без миелоцитов, промиелоцитов или бластов
Ly Blast (лимфобласт)	Бласты в лимфоцитарном регионе графического построения
MO Blast (монобласт)	Бласты в моноцитарном регионе графического построения
NE Blast (нейтробласт)	Бласты в нейтрофильном регионе графического построения
Variant LY (аномальные лимфоциты)	Образец содержит варианты лимфоциты, включая лимфоциты при вирусных инфекциях, незрелые и/или аномальные лимфоциты

Клинический пример №1

Hb 96 г/л

RBC $3.24 \times 10^{12}/л$

WBC $7.3 \times 10^9/л$

PLT $6.0 \times 10^9/л$

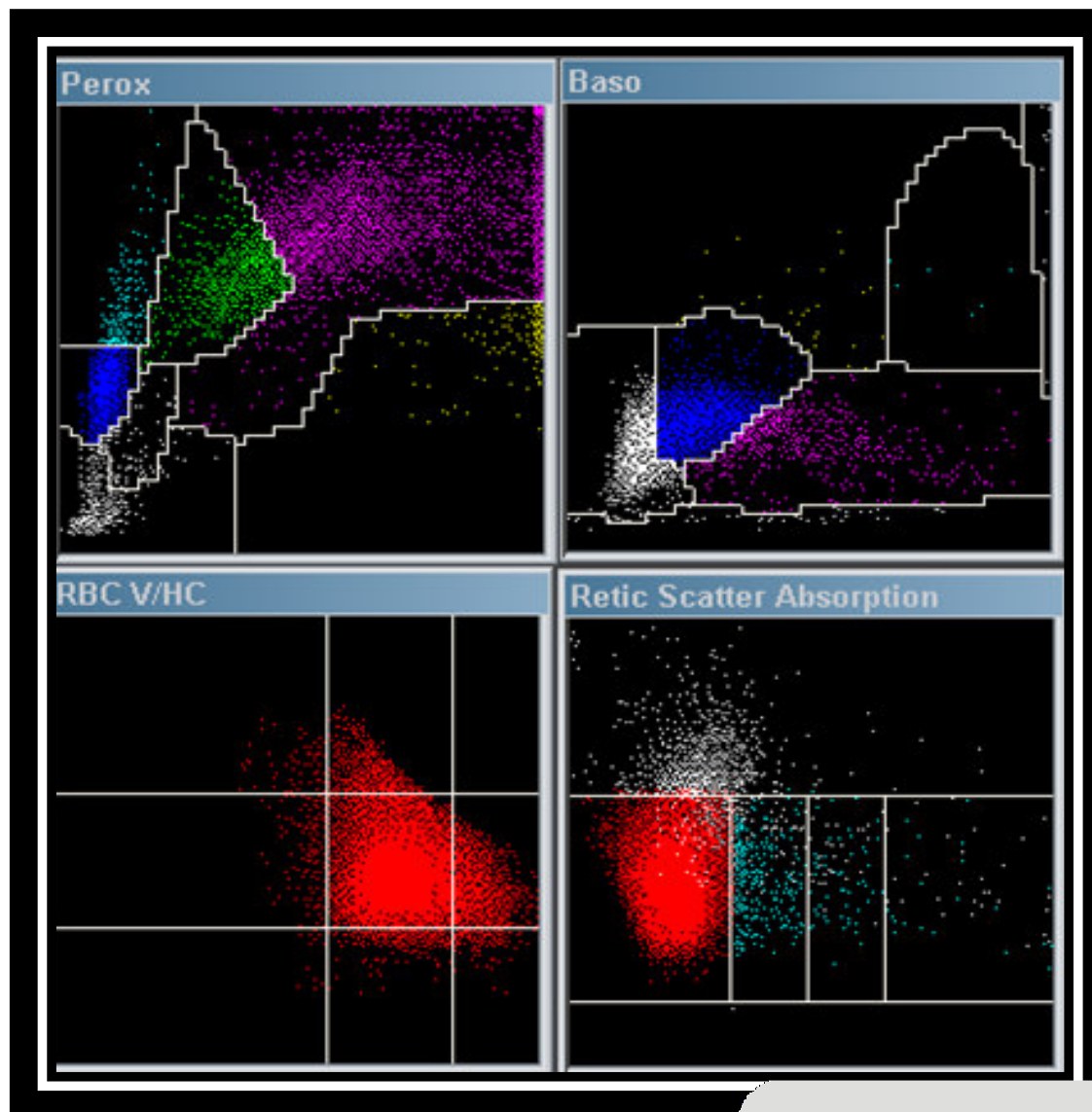
СОЭ 69 мм/час

Пациент С. 26 лет обратился к гематологу ОКДЦ 26.07.2016 с жалобами на выраженную общую слабость, субфебрильную температуру, головокружение, геморрагические высыпания на коже рук и ног. Объективно: кожные покровы бледные, множественные синячковые и геморрагические высыпания на коже ног, рук, туловища, алиментарное ожирение ИМТ 48.

Клинический пример №1

Нейтрофилы	42,9%
эозинофилы	2,5%
Базофилы	0,5%
Лимфоциты	40,5%
Моноциты	10,5%
Широкоплазменные лимфоциты	3,2%

Morphology Flags	
HYPER	+
ANISO	+
LEFT SHIFT	+++
BLASTS	+++
IG	+++

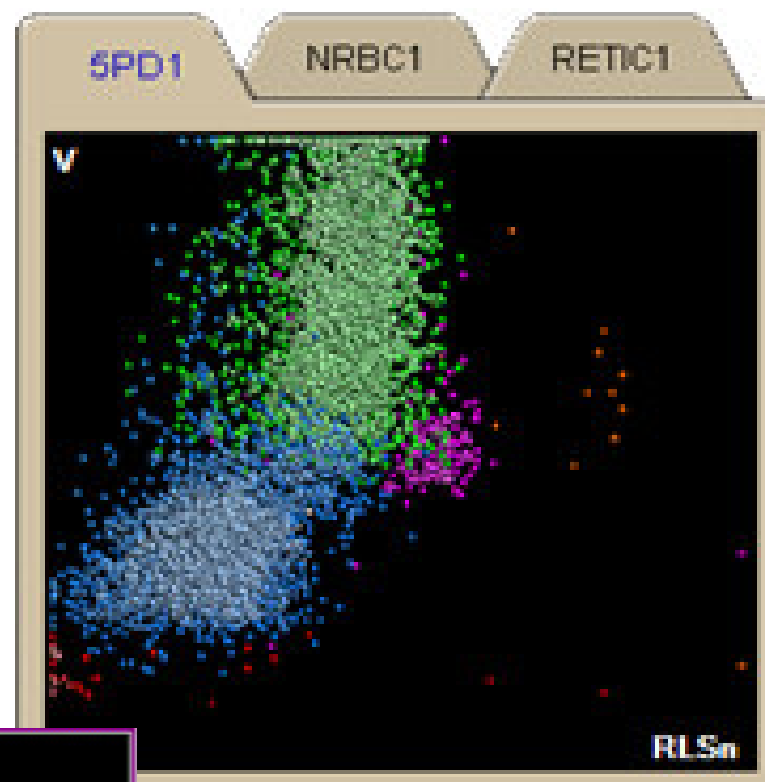


Клинический пример №1

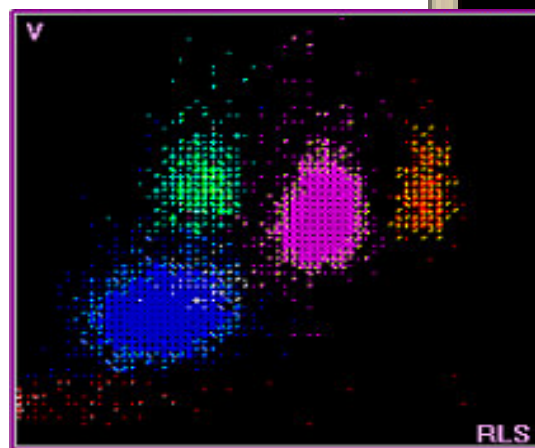
Нейтрофилы	2,6%
эозинофилы	0,1%
Базофилы	0,2%
Лимфоциты	51,5%
Моноциты	45,6%

Susp/Sys/Def Msgs

Imm Grans
Left Shift
MO Blast
Variant LY

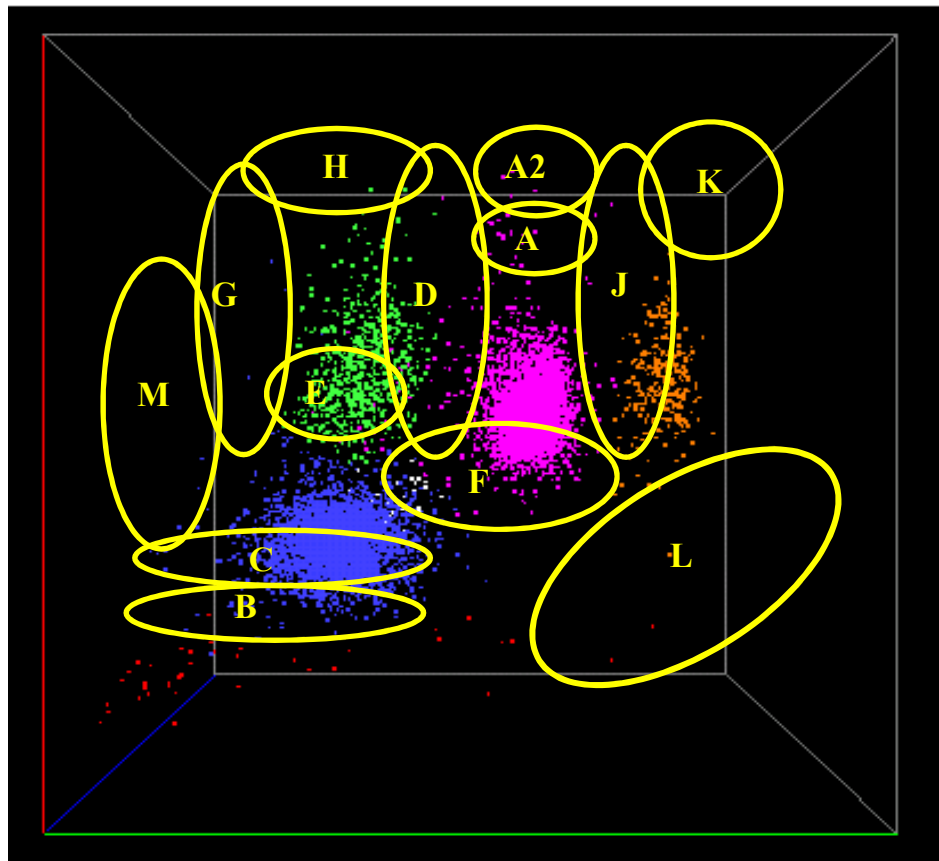


Пациент С.



НОРМА

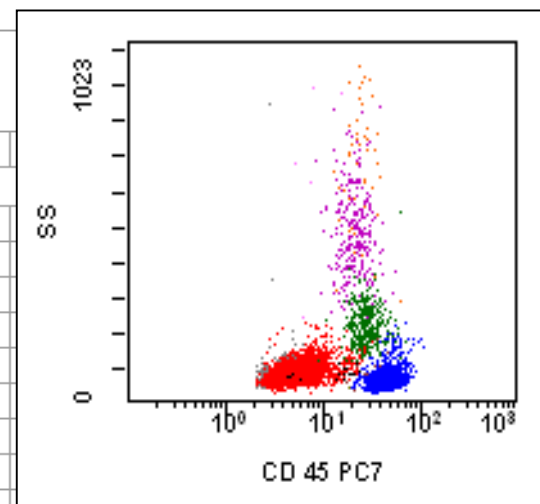
Атипичные зоны на трехмерных диаграммах и предполагаемые клинические объяснения



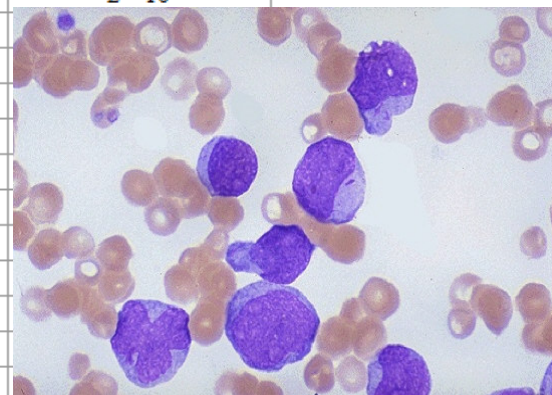
- F** Старые нейтрофилы, пролимфоциты, мелкие зернистые лимфоциты. Острый миелобластный лейкоз без дифференцировки. Бласты при M1 остром миелоидном лейкозе.
- G** Ворсинчатые клетки при волосатоклеточном лейкозе и моноцитные бласты. Острый лимфобластный лейкоз (L3, острый лимфоцитарный лейкоз Беркитта), моноциты, ворсинчатые лимфоциты при лимфоме маргинальной зоны селезенки. Атипичные и реактивные лимфоциты.
- H** Моноциты и миелоидные бласты в случаях острых миелоидных лейкозов: M3, M3v, M4, M5a, моногистиоциты при малярии и паразитарных инфекциях, моноциты при хроническом миеломоноцитарном лейкозе.
- J** Нейтрофилы с токсической зернистостью, дегранулированные эозинофилы, эозинофилы при гиперэозинофильном синдроме, тучные клетки при системном мастоцитозе. Нейтрофилы с тромбоцитарным сателлитизмом.
- K** Незрелые нейтрофилы: при паразитарных инфекциях (эхинококкоз, токсокароз) и при гиперэозинофильном синдроме
- L** Костномозговой жир, подкожный жир при плохом заборе крови, липемичная плазма, споры при сепсисе, вызванном *Candida Albicans*.
- M** Желчные пигменты, холиевая и дезоксихолиевая кислота, желчная атрезия, гепатопатии, плазматический гипербилирубин

Исследование № 100 000 370 612

Тест	Результат	Ед.изм.
<i>- Общий анализ крови</i>		
ГЕМОГЛОБИН	9,60 (!)	g/dL
ЭРИТРОЦИТЫ	3,24 (!)	$10^{12}/л$
ЦВЕТНОЙ показатель	0,889	
ЛЕЙКОЦИТЫ	7,30	$10^9/л$
ГЕМАТОКРИТ	28,20 (!)	%
Средний объем эритроцита	87,10	fl
Среднее содержание гемоглобина в эритроците	29,60	pg
Кoeff. анизотропии эритроцитов	15,30 (!)	%
Кoeff. анизохромии эритроцитов	3,37 (!)	g/dL
ТРОМБОЦИТЫ	6,00 (!)	$10^9/л$
<i>* тромбоцитопения</i>		
Средний объем тромбоцита	8,80	fl
СОЭ	69 (!)	мм/час
Бластные клетки	18,0	%
Абсол.число бластов	1,31	$10^9/л$
Миелоциты	3,0	%
Абс.число миелоцитов	0,22	тыс/мкл
Палочкоядерные нейтрофилы	1,00	%
Абс.число п/я нейтрофилов	0,07	$10^9/л$
Сегментоядерные нейтрофилы	6,30 (!)	%
Абс.число с/я нейтрофилов	0,46 (!)	$10^9/л$
ЭОЗИНОФИЛЫ	0,30	%
Абс.число эозинофилов	0,0	$10^9/л$
БАЗОФИЛЫ	0,20	%
Абс.число базофилов	0,0	$10^9/л$
ЛИМФОЦИТЫ	49,30 (!)	%
Абс.число лимфоцитов	3,60 (!)	$10^9/л$
МОНОЦИТЫ	21,90 (!)	%
Абс.число моноцитов	1,60 (!)	$10^9/л$
Широкоплазменные лимфоциты	3,60	%
Абс.число широкопл.лимфоцитов	0,26	$10^9/л$
<i>- Ретикулоциты</i>		



ОМЛ М2



Маркеры гипохромии в анализаторах различных производителей

параметр	аббревиатура	производитель
% гипохромных эритроцитов	Hypo (%)	Siemens
Концентрация гемоглобина в ретикулоците	CHr (pg)	Siemens
% гипохромных эритроцитов	HPO (%)	Abbot
Концентрация гемоглобина в ретикулоците	MCHr pg	Abbot
% гипохромных эритроцитов	Hypo He (%)	Sysmex
Содержание гемоглобина в ретикулоците	Ret He (pg)	Sysmex
% эритроцитов с пониженным содержанием гемоглобина	LHD (%)	Beckman Coulter
Показатель размера эритроцитов	RSF (fl)	Beckman Coulter
Фактор микроцитарной анемии	MAF	Beckman Coulter

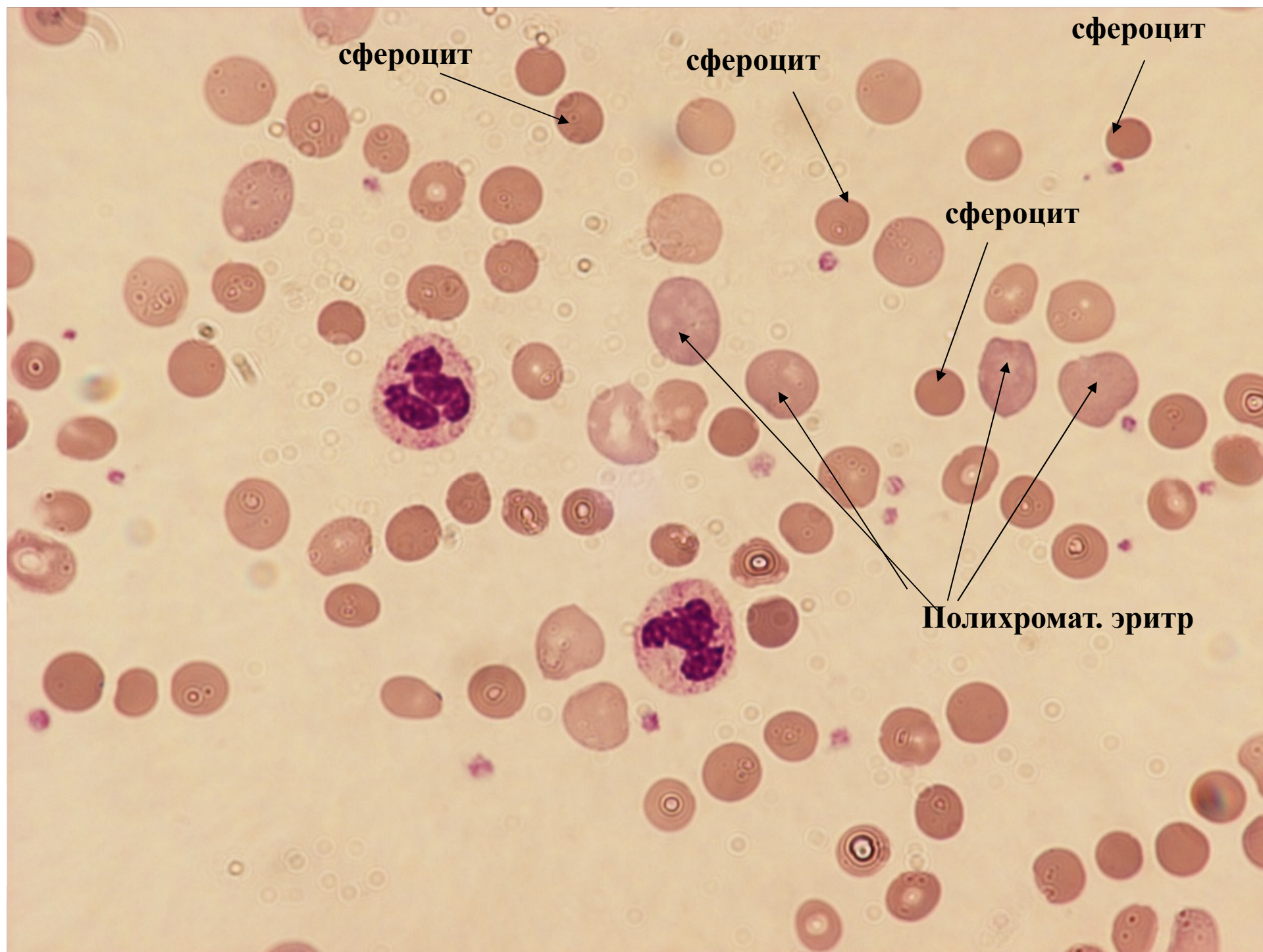
Новые маркеры анемии Beckman Coulter

- @MAF (латентный дефицит железа)
- @RSF (ретикулоцитарный признак дефицита железа)
- @LHD% (процент эритроцитов с низким содержанием гемоглобина)
- @MSCV (детекция сфероцитов)

@ - параметры только для лабораторного использования

Наследственная микросфероцитарная анемия

- » Наследственный микросфероцитоз был впервые описан в 1900 году Минковским, а в дальнейшем более подробно — Шоффаром. Это наследственная гемолитическая анемия вследствие дефекта мембраны эритроцитов, приводящего к характерному изменению формы эритроцитов (сфероциты), которая гетерогенна по степени тяжести клинических проявлений, дефектам мембранных белков и типу наследования. Распространенность 1:2000–1:5000 населения. Большинство людей, имеющих данную патологию, имеет слабо или умеренно выраженный гемолиз. Обычно имеется отягощенный семейный анамнез.



Сложности диагностики НС

- » Гетерогенность клинических проявлений
- » Различный возраст появления симптомов
- » Сложность дифференциальной диагностики от других гемолитических анемий
- » Сложность диагностических тестов

Лабораторная диагностика наследственного сфероцитоза

Параметр	Особенности при НС
Клинические данные	Анемия, желтуха, спленомегалия
Признаки гемолиза	Повышение билирубина, ЛДГ, ретикулоцитоз
Общий анализ крови на автоматическом гематологическом анализаторе	Снижение Hb, повышение MCHC, RDW и количества ретикулоцитов
Эритроцитометрия	Снижение среднего диаметра эритроцитов, сдвиг кривой Прайс-Джонса влево, наличие сфероцитов
Осмотическая резистентность	снижена
Эозин-5-малеимид-тест	снижен

Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению наследственного сфероцитоза, Москва, 2014

Лабораторная диагностика наследственного сфероцитоза

Параметр	Особенности при НС
Общий анализ крови на автоматическом гематологическом анализаторе	Снижение Нв, повышение MCHC, RDW и количества ретикулоцитов
Эритроцитометрия	Снижение среднего диаметра эритроцитов, сдвиг кривой Прайс-Джонса влево, наличие сфероцитов
Эктоцитометрия	Снижение деформируемости эритроцитов в потоке
ЭФ белков мембран эритроцитов	Изменение состава белков
Криогемолиз	снижена
ЭМА-тест	Снижен

Lazarova E., Pradier O., Cotton F. Automated reticulocyte parameters for hereditary spherocytosis screening//
Ann. Hematol, 10 June, 2014

Британский комитет по стандартизации в гематологии

Недостатки лабораторных методов диагностики НС

- » Трудоемкость
- » Отсутствие стандартизации и контроля качества
- » Ни один из тестов по отдельности не дает полной картины
- » Гематологический анализатор измеряет MCV, которое не меняется при НС

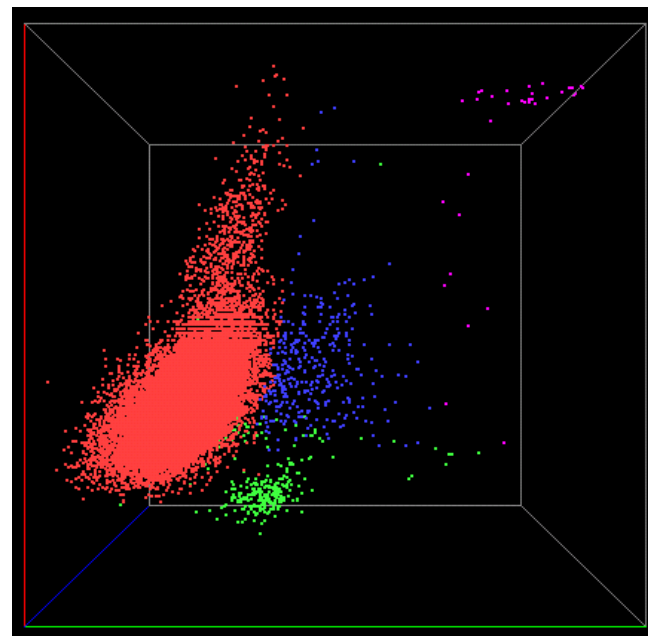
@MSCV: Mean Sphered Cell Volume (средний объем сферических клеток)

Анализ ретикулоцитов

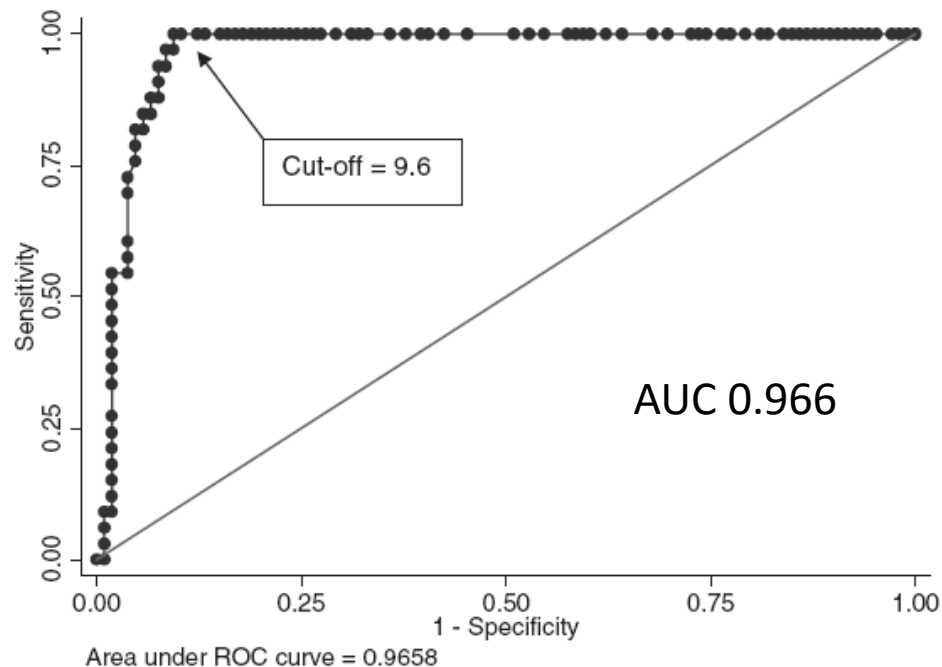
Стадия 1: Кровь + New Methylene Blue

Стадия 2: добавление гипоосмотического реагента – сферизация клеток и удаление гемоглобина

В норме значения @MSCV и MCV близки. Сфероциты неустойчивы в гипоосмотических условиях, поэтому при сфероцитозе @MSCV значительно ниже (клетки разрушаются при достижении критического объема)



Исследование на LH 750



**Тест на наследственный
сфероцитоз:**

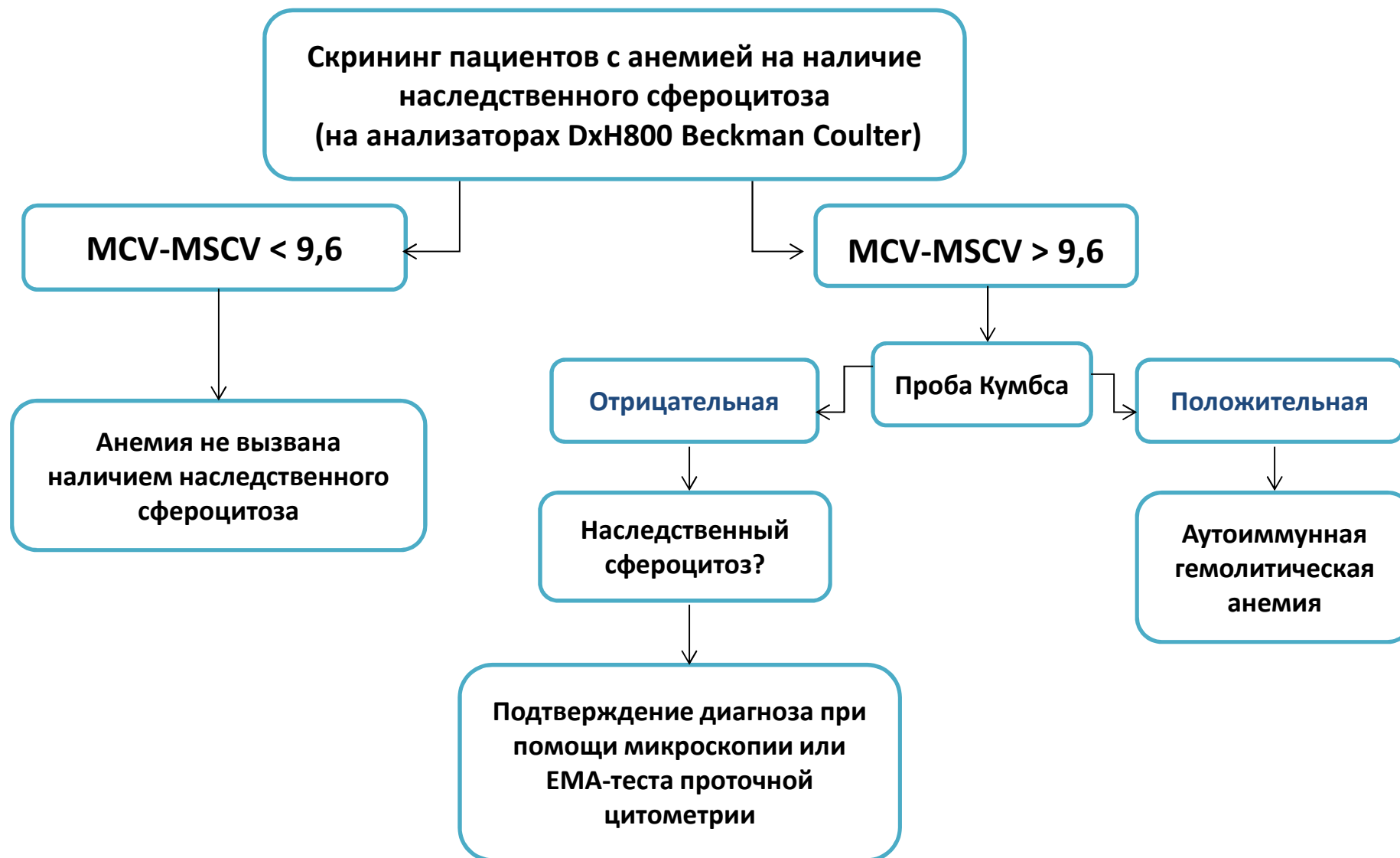
MCV-@MSCV

Cut-off 9.6:

90.57% специфичность
и 100% чувствительность

@ - параметры только для лабораторного использования

СХЕМА СКРИНИНГА ПАЦИЕНТОВ С АНЕМИЕЙ НА НАЛИЧИЕ СФЕРОЦИТОЗА



Клинический пример №2

Контроль результатов анализа, препарат 1 из 1

Галерея F9 Препараты Вид Печать Статистика Выход

Дата **28.07.2016** Номер **1** Лет **15** Пациент **_____**

Отделение **_____** Вид госпитализации **_____** Диагноз **_____**

Концентрации клеток

Показатель	Норма	Авт.	Прот.
Эритроциты, млн/мкл	3.80-5.80		4
Гемоглобин, г/л	108-156		129
Гематокрит, %	33-45		
Лейкоциты, тыс/мкл	4.5-13.0		
Тромбоциты тыс/мкл	140-408		
СОЭ, мм./ч.			

Число правок (лейкоциты) **0**

Число правок (остальные) **52 (1,0%)**

Кривая Прайс-Джонса

Диаметр эритроцита, мкм.

Распределение гемоглобина

содержание гемоглобина, гг.

Формула лейкоцитов, %

	Норма	Авт.	Руч.
Недифференцированные промиелоциты			
миелоциты			
метамиелоциты			
палочкоядерные	3.0		
сегментоядерные	53		
эозинофилы	2.5		
базофилы	0.5		
лимфоциты	37		
моноциты	4.7		
плазматические			

Формула эритроцитов, %

	Микро	Нормо	Макро	Всего
Дискоциты	23,8	64,5	0,3	88,7
Эхиноциты	0,1	0,0	0,0	0,2
Эллиптоциты	0,0	0,1	0,0	0,2
Каплевидные	0,1	0,1	0,0	0,3
Сфероциты	1,5	1,2	0,0	2,8
Дегенераты	1,7	6,1	0,1	7,8
Всего	27,2	72,0	0,4	

Эритроцитометрия

Показатель	Норма	Авт.	Руч.
Ср.диам.эрит.,мкм.		6,98	
Кэф. овалоцитоза		0,67	

Особенности морфологии клеток

Показатель	Норма	Авт. %	Руч. +
Пойкилоцитоз	0-5,-	10	
Анизоцитоз	0-5,-	8	
Анизохромия	0-30,-	13	
Полихроматофилы	-	0	
Эритронормобласты	-	0	
Мегалобласты	-	0	
Тельца Жолли	-	0	
Базоф. зерн. эрит.	-	0	
Гиперсегм. ядер	-		
Токс. зерн. нейтроф	-		

Клинический пример №2

CBC				
28/07/2016 19:37:39				
Test	Result	Flags	Delta	Days
WBC	6.7			
UWBC	6.7			
RBC	4.52			
HGB	13.4			
HCT	39.1			
MCV	86.6			
MCH	29.9			
MCHC	34.1			
RDW	16.4	H		
RDW-SD	51.2	H		
PLT	367	H		
MPV	7.7			

RETIC				
28/07/2016 19:37:39				
Test	Result	Flags	Delta	Days
RET	3.61	H		
RET#	163.0	H		
MRV	11.5	L		
IRF	0.30			

28/07/2016 19:37:39				
Test	Result	Flags	Delta	Days
@MSCV	63.1			
@RSF	82.1			
@RDWR	30.5			

$$MCV (86,6) - MSCV (63,1) = 23,5 > 9,6$$

Прямая проба Кумбса – отрицательная

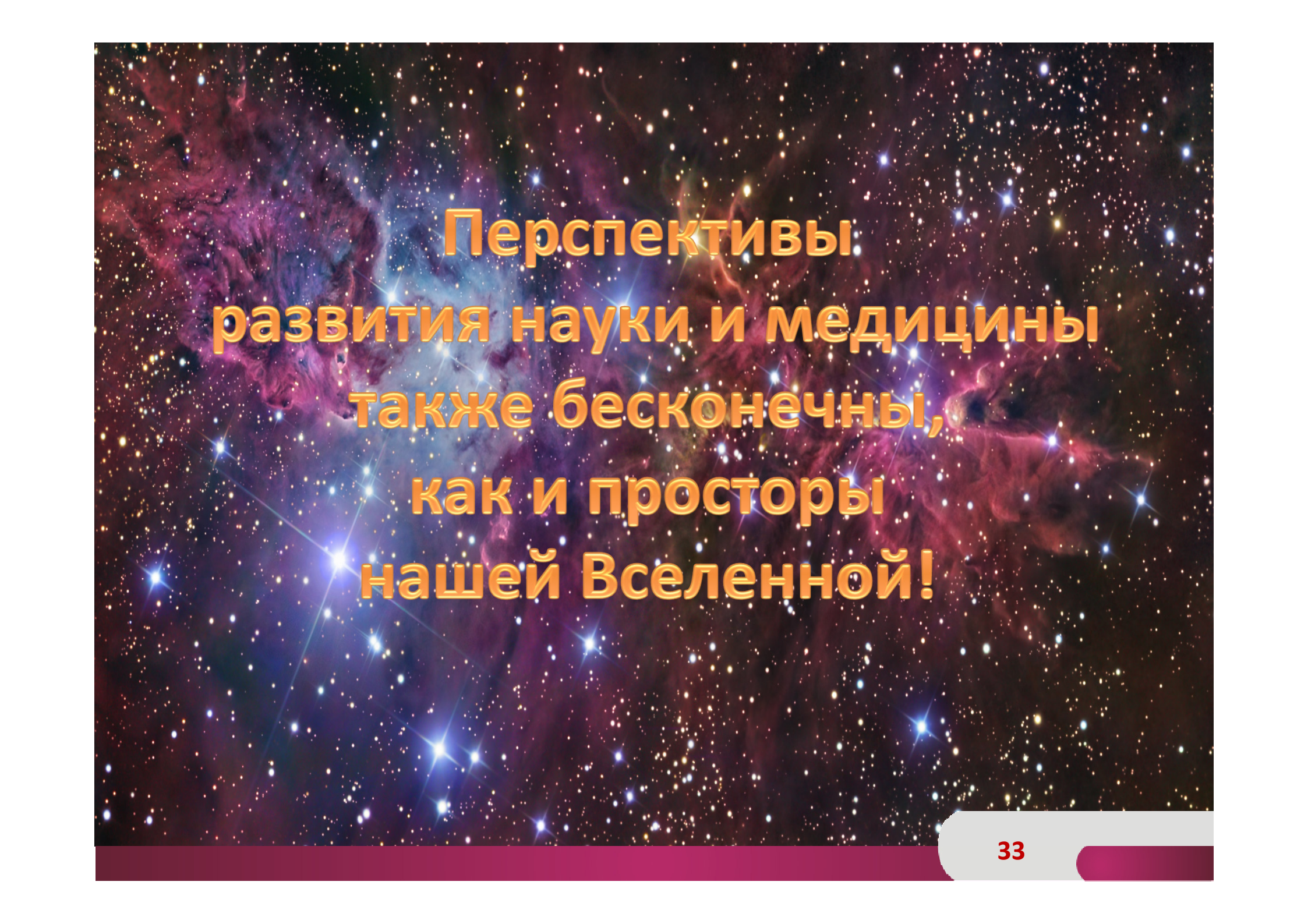
Семейный анамнез +

HB	13,4
RBC	4,52
MCV	86,6
Средний диаметр	6,98
MCH	31,6
RET	3,61
RET #	163,0
MSCV	63,1

Исследование на DxH 800

- » Среди новых гематологических параметров разность (MCV-@MSCV) позволяет проводить эффективный скрининг на наличие наследственных заболеваний, связанных с нарушениями мембраны эритроцитов.
- » При использовании cut off 15 fL возможно идентифицировать все наследственные нарушения структуры мембраны эритроцитов.
- » Для последующей дифференциальной диагностики с АИГА рекомендуется использовать пробу Кумбса.

@ - параметры только для лабораторного использования



**Перспективы
развития науки и медицины
также бесконечны,
как и просторы
нашей Вселенной!**